

干细胞专题

干细胞研究进展消息

干细胞是人体及其各种组织细胞的最初来源,具有高度自我复制、高度增殖和多向分化的潜能。干细胞研究正在向现代生命科学和医学的各个领域交叉渗透,干细胞技术也从一种实验室概念逐渐转变成能够看得见的现实。干细胞研究已成为生命科学中的热点。鉴于此,本刊就干细胞的最新研究进展情况设立专栏,为广大读者提供了解干细胞研究的平台。

Nature: 发现产生白细胞的骨髓环境

美国西南医学中心研究所Morrison博士的研究团队发现,早期淋巴祖细胞在成骨龛的环境下非常活跃,能大量生成抗感染的白细胞,也就是T细胞和B细胞。该研究还为绘制出整个造血系统中不同类型造血干细胞的微环境图谱找到了一个行之有效的方法。相关研究在线发表于*Nature*杂志上。

研究人员通过确定生长因子(CXCL12)所必需的造血细胞,确定了干细胞和早期淋巴祖细胞的生长环境。成骨细胞创造了供养早期淋巴祖细胞的环境。在骨髓中,不同的成骨龛或是微环境有利于造血干细胞和祖细胞的生长。骨髓通过划分不同的区域而制造出不同类型的造血干细胞。

他们计划今后用同样的方法研究骨髓里的其他生长因子,以绘制出骨髓中每种类型造血干细胞的微环境。今后研究人员可以在实验室复制出类似的环境,培育出所需的造血干细胞,用于移植治疗白血病等严重疾病。

Ding L, Morrison SJ. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. *Nature* 2013; 495(7440): 231-5.

Nature: 体外成功培养肝脏干细胞

美国俄勒冈健康与科学大学Doernbecher儿童医院的临床科学家以及荷兰Hubrecht发育生物学和干细胞研究所的研究人员共同开发了一种能够在培养皿中无限扩增小鼠肝脏干细胞的新方法,公布在近期的*Nature*杂志上。

一直以来,科研人员尝试利用再生肝细胞进行疾病治疗和研究,但活的肝脏干细胞的鉴别和人工培养困难重重。之前研究通过Wnt靶向基因*Lgr5* (leucine-rich-repeat-containing G-protein-coupled re-

ceptor 5)鉴别了小肠和结肠中的干细胞。科研人员推测,肝脏干细胞也可能有类似的基因表达。

新研究中,研究人员发现Wnt诱导*Lgr5*表达不仅可以标记肝脏中的干细胞生成,还可以确定一种在肝损伤时变得活跃的干细胞。

利用三维培养系统使*Lgr5*⁺干细胞长期克隆扩增转化为可移植的组织体(萌芽囊肿),保留了许多原始上皮结构的特点。培养液中的重要组成部分为Wnt激动剂RSPO1,是最近发现的*Lgr5*配体。这种克隆类器官可以在体外诱导分化,并生成完全功能的肝细胞后移植到患病模型*Fah*^{-/-}小鼠,具有一定的治疗效果。

科研人员希望通过新方法大规模的扩增肝细胞满足临床治疗的条件。

Huch M, Dorrell C, Boj SF, van Es JH, Li VS, van de Wetering M, et al. *In vitro* expansion of single *Lgr5*⁺ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration. *Nature* 2013; 494(7436): 247-50.

Nat Commun: iPS组合技术治疗杜氏肌营养不良症

美国明尼苏达州大学Lillehei心脏研究所的Rita Perlingeiro博士实验室将遗传修复技术与细胞重编程技术结合在一起,在小鼠模型中获得了能再生出肌肉的干细胞,可以用于治疗杜氏肌营养不良症(DMD),研究结果公布在*Nat Commun*杂志上。

DMD患者由于基因突变缺陷导致肌肉细胞不能正常产生一种称为Dystrophin的蛋白质,会使钙离子渗入细胞,引发瀑布反应,导致患者全身肌肉无力,又因肌肉细胞内缺少Dystrophin,导致细胞组织肌肉纤维变得无力且脆弱,最终导致肌肉细胞死亡。

首先,研究人员将dystrophin和utrophin基因突变小鼠的皮肤细胞重编程为了iPS细胞,然后转入一

种称为“micro-utrophin”的基因进行遗传修复, 该基因能取代抗肌萎缩蛋白, 重塑机体的肌肉纤维, 最后将修复的iPS细胞分化成骨骼肌干细胞。分化过程中加入Pax3肌肉干细胞蛋白, 能快速高效地获得Pax3, 诱导肌肉干细胞, 进行移植治疗。

患病小鼠接受干细胞移植后能产生功能性肌肉, 对肌肉纤维损伤作出应答。并检查到新形成的肌纤维表达修复后的标记, 包括utrophin。证明了iPS技术结合遗传修复技术, 治疗肌营养不良症的可行性。

研究人员表示还需要进行动物模型验证, 希望未来能将这些技术用于人类细胞, 在人类患者中进行试验。

Filareto A, Parker S, Darabi R, Borges L, Iacovino M, Schaaf T, *et al.* An *ex vivo* gene therapy approach to treat muscular dystrophy using inducible pluripotent stem cells. *Nat Commun* 2013; 4: 1549.

***PLoS Genet*: 北京基因组研究所成体干细胞组织平衡机制研究获新进展**

近日, 中国科学院北京基因组研究所博士生胡政, 在翟巍巍博士和吴仲义教授共同指导下, 通过与德克萨斯大学符云新(Fu Yunxin)教授合作, 利用群体遗传学理论建立了体细胞的溯祖模型(coalescent model), 定量描述了干细胞的不同形式的分裂模式和细胞之间祖先关系树之间的联系, 研究首次发现小鼠肠道上皮成体干细胞维持组织平衡的分裂模式是一个随着年龄阶段逐步演化的特征, 这也是脊椎动物实体组织第一次观察到上述现象。该学术论文已于2013年2月28日在线发表在*PLoS Genet*上。

在稳定的环境中, 成体干细胞维持组织平衡的方式有两种: 一种是不对称的分裂方式, 干细胞每次分裂时, 一个子细胞仍然维持干细胞状态, 而另一个子细胞进入分化状态。这种维持平衡的方式被称为细胞不对称(cell asymmetry)模式; 另一种是对称的分裂方式, 每次分裂时, 干细胞两个子代细胞的命运相同, 要不都是干细胞, 要不都是分化细胞。当分裂成两个分化细胞的比例和分裂成两个干细胞的比例相同时, 群体中干细胞数量仍是平衡的。这样的维持平衡的方式被称为群体不对称(population asymmetry)模式。在细胞群体中, 干细胞不同的分裂模式会对细胞群体的更新方式产生重要的影响, 继而会产生不同形式的细胞之间的祖先关系(genealogical relationship)。这样的祖先关系和人类种群的家谱关

系很类似。

基因组研究所研究人员利用不同年龄小鼠的肠道上皮细胞的单细胞测序数据, 运用溯祖模型进行了分析和推断, 研究发现, 年轻小鼠(52天)的肠道干细胞大部分采用第一种细胞不对称模式, 而成年小鼠(340天)的肠道干细胞则完全采用第二种群体不对称方式。该研究第一次发现成体干细胞维持组织平衡的分裂模式是一个随着年龄阶段逐步演化的特征, 对研究脊椎动物组织更新具有非常重要的意义。

该研究结合了单细胞测序、发育生物学、群体遗传学在内的多门学科, 是多学科交叉的一次创新的尝试。

Hu Z, Fu YX, Greenberg AJ, Wu CI, Zhai W. Age-dependent transition from cell-level to population-level control in murine intestinal homeostasis revealed by coalescence analysis. *PLoS Genet* 2013; 9(2): e1003326.

***J Mol Cell Biol*: 转录因子Nanog能够抑制细胞的迁移**

中科院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所朱学良研究组发现, 干细胞转录因子Nanog可通过下调下游基因Thymosin β 4和Rnd3的表达来抑制细胞的迁移, 提示Nanog等转录因子能够在调控胚胎干细胞干性的同时影响细胞的迁移能力。研究结果在线发表于*J Mol Cell Biol*上。

细胞迁移对胚胎发育的组织、器官形成等有重要贡献。干细胞需要在一些特定的转录因子的作用下才能维持其干性, 在细胞分化的过程中这些转录因子的表达会被抑制。细胞分化往往也会伴随细胞迁移能力的变化。

朱学良研究组的研究生周钊灼等发现, 在普通培养细胞内异位表达Nanog、Oct4、Sox2等干细胞转录因子能够显著抑制细胞的迁移。针对Nanog的进一步研究发现, 它通过下调Thymosin β 4和Rnd3两个蛋白来影响微丝骨架的排布和黏着斑的定位, 进而抑制细胞的迁移。Thymosin β 4和Rnd3在小鼠的胚胎干细胞分化过程中的表达量与Nanog负相关, 而在具有多分化潜能的小鼠畸胎瘤P19细胞内敲低Nanog的表达则能够促进细胞迁移。由于已知Nanog的表达水平在斑马鱼的囊胚阶段高, 但在原肠运动后期急剧下降, 在体实验选取斑马鱼早期胚胎作为研究对象, 发现在斑马鱼胚胎中持续性表达Nanog会抑制原肠运动过程中的细胞迁移。

这些研究结果提示, Nanog等转录因子具有调

节干性和迁移能力的双重作用,这种两面性可能有助于细胞分化和迁移的协调。

Zhou Y, Li S, Huang Q, Xie L, Zhu X. Nanog suppresses cell migration by downregulating thymosin β 4 and Rnd3. *J Mol Cell Biol* 2013; doi: 10.1093/jmcb/mjt002.

***J Biol Chem*: BMP信号调控神经外中内胚层间命运新机制**

近日,中科院上海生命科学研究院生化与细胞所景乃禾研究组最新研究发现,锌指蛋白转录因子Ovol2作为一个新的BMP信号下游靶基因,参与调控神经外胚层和中内胚层间的命运决定。研究结果发表于*J Biol Chem*上。

在高等动物的早期胚胎发育过程中,BMP信号通路在神经/非神经的细胞命运决定中发挥了极其重要的作用。BMP信号抑制神经命运的提前发生,保证了中、内胚层和表皮正常发育。然而,BMP信号调控神经外胚层和中内胚层间命运决定的分子机制仍然不甚清楚。

景乃禾研究组博士研究生张婷等发现,在小鼠ES细胞的神经分化过程中,锌指蛋白转录因子Ovol2的表达水平持续下降。功能研究发现,Ovol2能够抑制ESCs的神经分化,并促进其向中内胚层细胞分化。此外,通过shRNA抑制Ovol2的表达,能显著削弱BMP信号对神经分化的抑制和对中内胚层分化的促进作用。机制研究进一步发现,BMP信号通过磷酸化的Smad1/5/8结合到Ovol2基因的第二个内含子上直接上调其表达。在早期鸡胚中,Ovol2表达于神经区域之外,并被BMP4上调。而在早期鸡胚的未来神经板区域过表达Ovol2,能够明显抑制神经板标记基因Sox2的表达。

这一工作揭示了BMP信号在早期胚胎发育中,如何通过其下游的转录因子,调控神经外胚层和中内胚层的命运决定,从而保障各胚层发育的正常进行。

Zhang T, Zhu Q, Xie Z, Chen Y, Qiao Y, Li L, *et al.* The Zinc finger transcription factor Ovol2 acts downstream of the bone morphogenetic protein pathway to regulate the cell fate decision between neuroectoderm and mesendoderm. *J Biol Chem* 2013; 288(9): 6166-77.

***Cell Stem Cell*: 研究人员连续克隆26代实验鼠**

日本理化研究所科研人员报告说,他们借助用克隆动物培育克隆动物的“再克隆”技术,成功地用一只实验鼠培育出了26代共598只实验鼠。研究结

果发表在*Cell Stem Cell*网络版上。

克隆技术面临的一大课题是克隆动物生育率低,繁殖代数越多,生育率越低。迄今为止,实验鼠繁殖6代、牛繁殖两代就达到了极限。一旦提供可供克隆的细胞的动物死亡,遗传信息就会断绝。

日本理化研究所研究员若山照彦率领的研究小组2005年曾发现,在培育克隆实验鼠的时候,将移植了细胞核的卵细胞浸入一种名为“曲古抑菌素A”的组蛋白去乙酰化酶抑制剂中,生育率就会提高。研究小组不断改良技术,成功培育了26代实验鼠,且生育率最高达到约15%。

研究发现,克隆的实验鼠很健康,繁殖能力和寿命与一般实验鼠也没有区别。研究人员认为,这说明再克隆可以无限持续下去。

由于克隆动物遗传特性相同,所以再克隆技术有望用于肉质好的牛等良种家畜的大规模生产及濒危物种的保护。

Wakayama S, Kohda T, Obokata H, Tokoro M, Li C, Terashita Y, *et al.* Successful serial recloning in the mouse over multiple generations. *Cell Stem Cell* 2013; 12(3): 293-7.

***Dev Cell*: EpCAM促进肝脏发育**

中国西南大学生命科学学院的研究人员在新研究中证实,EpCAM作为一种内胚层特异性Wnt去阻抑子,能促使肝脏发育,相关论文发表在3月11日的*Dev Cell*杂志上。

肝脏、胰腺是由内胚层发育而来的人体重要消化器官。因为许多调控内胚层发育和再生的关键因子尚未被发现,或是已知因子的某些功能还有待发掘,科学家们还没能成功诱导肝脏、胰腺、肠道细胞分化和再生。过去的研究表明,Wnt2bb信号传递调控了斑马鱼肝脏分化,EpCAM是一种内胚层特异性Wnt去阻抑子。

研究人员发现,*hi2151/epcam*突变体显示出与*prrt/wnt2bb*相似的肝发育缺陷。机制研究证实,EpCAM直接与Kremen1结合,破坏了Kremen1-Dickkopf2(Dkk2)互动,阻止了Kremen1-Dkk2介导从细胞表面除去脂蛋白受体相关蛋白6(LRP-6)。这些研究数据为研究人员提供了一个模型,即EpCAM使得Lrp6去抑制,协同Wnt配体通过稳定膜Lrp6,并使Lrp6在活化信号小体(signalosome)中聚集,激活了Wnt信号。因此,EpCAM细胞自主许可,并协同激活了内胚层细胞中的Wnt2bb信号。

研究表明, EpCAM是一个重要的分子, 它的功能机制赋予了内胚层细胞对肝诱导性Wnt2bb信号产生反应的能力。

Lu H, Ma J, Yang Y, Shi W, Luo L. EpCAM is an endoderm-specific Wnt derepressor that licenses hepatic development. *Dev Cell* 2013; 24(5): 543-53.

Cell Stem Cell: 植入人胶质祖细胞提高小鼠突触可塑性和学习能力

美国University of Rochester Medical Center的研究人员把人体中枢神经系统中的胶质细胞植入动物体内, 发现这些人体细胞影响动物大脑的通讯能力, 提高学习能力。这一发现可能对了解人脑进化具有重要意义。研究论文发表于*Cell Stem Cell*上。

胶质细胞广泛分布于中枢神经系统内, 具有支持、滋养神经元的作用, 也有吸收和调节某些活性物质的功能。相比其他物种, 人脑中的胶质细胞更多、更大和更具多样性。人的胶质细胞个体以许多可同时连接大量神经细胞的纤维呈现出来。

实验中科学家把人胶质细胞植入老鼠体内, 通过观察人胶质细胞和老鼠正常神经细胞共存时出现的结果, 以便了解这些细胞是否为人脑提供独特能力。他们把人胶质细胞植入新生老鼠脑中。老鼠成熟时, 人胶质细胞超过老鼠与生俱来的胶质细胞, 同时没有对现有神经网络造成伤害。结果显示, 这些细胞影响潜在的神经活动模式。

人胶质细胞基本上占据老鼠神经细胞的突触。实际上, 这个通讯点上的所有胶质细胞和一部分星形胶质细胞都来自被植入的人体细胞。与此同时, 它们的发育和行为本质上和人脑中的一样。研究人员先是注意到, 被植入人体细胞的老鼠的脑波传递速度比正常老鼠更快, 同时更类似于人脑组织。接下来, 他们发现一个测量神经细胞在大脑停留时间的过程受到短暂电刺激的影响。另外, 科学家还通过测试记忆和学习能力的评估实验, 发现被植入人体细胞的老鼠在成长过程中表现出更好的学习能力。

研究表明, 植入人的胶质细胞后这些老鼠

现有神经网络内的可塑性和学习能力明显提高, 本质上改变了它们的功能性能力。这意味着人体胶质细胞在智慧能力和认知处理中扮演着一种特异角色, 为医学界提供了一个了解和治疗神经障碍的新工具。

Han X, Chen M, Wang F, Windrem M, Wang S, Shanz S, *et al.* Forebrain engraftment by human glial progenitor cells enhances synaptic plasticity and learning in adult mice. *Cell Stem Cell* 2013; 12(3): 342-53.

Nature: 发现新的卵巢癌干细胞

美国康奈尔大学冷泉港实验室(CSHL)的研究人员在卵巢中发现的一些具有干细胞特性的细胞, 这一发现公布在*Nature*杂志上, 对于我们深入了解卵巢癌具有重要的意义。

研究发现, 位于卵巢中一个称为卵巢门(hilum)位置上的干细胞群, 能在排卵期后修复受损的卵巢组织, 而这些细胞又很容易转化为肿瘤细胞。一些上皮癌, 如卵巢癌和肠类癌症就是源自不同类型上皮细胞之间的过渡区域, 但是卵巢中这些细胞的确切来源至今仍不清楚。

这些细胞增殖缓慢, 能进行自我更新, 并且能表达大量的干细胞标记乙醛脱氢酶1(acetaldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)。

研究人员还通过关闭抑癌基因*Trp53*和*Rb1*, 令卵巢门上皮细胞恶性转化, 然后将其移植到小鼠体内, 结果发现8只实验小鼠中有7只出现了转移性卵巢癌。*Trp53*和*Rb1*就是在人类卵巢癌经常发生变异的两种抑癌基因。

研究人员推测其他器官(例如宫颈、食道)中一些类似的上皮过渡/交界区域也是干性细胞来源, 也会易于出现恶性转化, 成为癌症滋生地。该研究或许对癌症的发现、诊断和治疗有积极意义。

Flesken-Nikitin A, Hwang CI, Cheng CY, Michurina TV, Enikolopov G, Nikitin AY. Ovarian surface epithelium at the junction area contains a cancer-prone stem cell niche. *Nature* 2013; 495(7440): 241-5.